



Saliva como método diagnóstico do SARS-CoV-2: uma revisão integrativa

Saliva as a diagnostic sample of SARS-CoV-2: an integrative review

Bruna de Paula Nogueira , Bernardo da Fonseca Orcina , Rodrigo Cardoso de Oliveira , Paulo Sérgio da Silva Santos *

Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo - USP, Bauru, SP, Brasil.

*paulosss@fob.usp.br

RESUMO

Em março de 2020, a doença causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) foi caracterizada como uma pandemia. Em decorrência da magnitude que a doença alcançou e seu caráter inédito, um crescente interesse científico sobre a mesma surgiu, com buscas para se encontrarem novos métodos diagnósticos, aumentando a velocidade para a obtenção dos resultados dos testes e, conseqüentemente, um melhor mapeamento epidemiológico da doença. Esta revisão integrativa tem como objetivo analisar as principais evidências científicas sobre a utilização da saliva como método diagnóstico da Covid-19. Na presente revisão integrativa, foram realizadas buscas em quatro bases de dados eletrônicas, em março de 2022, sendo elas: PubMed, em que foram incluídos resultados exclusivamente em inglês, e nas plataformas Google acadêmico, SciELO e Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), havendo a inclusão dos resultados restritamente em português. Foram utilizadas diferentes palavras-chave de acordo com a linguagem dominante das bases de dados, sendo no PubMed em língua inglesa escolhidos "SARS-CoV-2", "saliva", "diagnosis", "viral load" e "coronavirus Covid-19" e nas demais plataformas, em língua portuguesa "saliva", "covid" e "diagnósticos". Dentre os 45 artigos incluídos e analisados, mais da metade classificaram a saliva como um método diagnóstico alternativo ou complementar. Ainda, apenas três artigos do número total classificaram a saliva como uma amostra inviável para os testes de diagnóstico. Dessa forma, a saliva mostrou resultados positivos como uma opção de diagnóstico e para o acompanhamento e monitoramento da Covid-19. No entanto, apesar das limitações dos estudos, a amostra salivar em pacientes pediátricos sugere ter baixa sensibilidade.

Palavras-chave: Covid-19. Saliva. SARS-CoV-2. Testes para Covid-19.

ABSTRACT

In March 2020, the disease caused by the new coronavirus (SARS-CoV-2) was characterized as a pandemic. Due to the magnitude that the disease has reached and its unprecedented character, a growing scientific interest in the disease has emerged, with searches to find new diagnostic methods, increasing the speed to obtain test results and, consequently, a better epidemiological mapping of the disease. This integrative review aims to analyze the main scientific evidence on the use of saliva as a diagnostic method for COVID-19. In the present integrative review, searches were conducted in four electronic databases in March 2022, namely: PubMed, in which results were included exclusively in English, and in the platforms Google Scholar, SciELO and Virtual Health Library (VHL), with the inclusion of results strictly in Portuguese. Different keywords were used according to the dominant language of the databases, being in PubMed in English language chosen "SARS-CoV-2", "saliva", "diagnosis", "viral load" and "coronavirus COVID-19" and in the other platforms, in Portuguese language "saliva", "covid" and "diagnosis". Among the 45 articles included and analyzed, more than half classified saliva as an alternative or complementary diagnostic method. Yet, only three articles out of the total number classified saliva as an unviable sample for diagnostic testing. Thus, saliva showed positive results as a diagnostic option and for COVID-19 follow-up and monitoring. However, despite the limitations of the studies, the saliva sample in pediatric patients suggests having low sensitivity.

Keywords: COVID-19. COVID-19 Tests. Saliva. SARS-CoV-2.

INTRODUÇÃO

Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) caracterizou a doença causada pelo novo coronavírus como uma pandemia, em decorrência do aumento de novos casos infectados e grande número de óbitos em um curto período de tempo. Sobre a Covid-19, sabe-se que o paciente infectado pode se apresentar de maneira assintomática, porém, quando sintomático, alguns de seus sintomas são caracterizados por febre, tosse, coriza, dor de garganta, assim como dificuldade para respirar em casos mais graves (Yan et al., 2020; Xu et al., 2020; Zhong et al., 2020; Huang et al., 2021; Matuck et al., 2021). O SARS-CoV-2 possui uma afinidade pela ECA-2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2), que está expressa em todo o trato respiratório, células renais e miocárdicas, por exemplo, assim como nas papilas linguais, glândulas salivares e nas mucosas orais. Diante desta interação e grande expressão e distribuição da ECA-2 na cavidade bucal, sugere-se um alto potencial de transmissão e presença do vírus na saliva (Hung et al., 2020; Yan et al., 2020; Huang et al., 2021; Lee, Herigon, Benedetti, Pollock & Denking, 2021).

Dessa forma, a detecção oportuna e precisa do vírus fez com que muitos métodos diagnósticos tenham sido utilizados, tais como: os exames de sangue, fezes, urina, amostras de escarro, lavagem broncoalveolar, além de swabs nasofaríngeos e posterior faríngea e, também, as amostras salivares (Matuck et al., 2021). Esta última tem demonstrado ótimos resultados para a detecção viral, uma vez que ela possui quantidade expressiva de amostras da mucosa oral, e, conseqüentemente, uma captação dos receptores ECA-2, tornando o diagnóstico da Covid-19 mais preciso (Hung et al., 2020).

Diante desta potencialidade, a saliva apresenta-se como um fluido na cavidade oral, produzida pelas glândulas salivares, sendo vista como uma boa opção de amostra para diagnóstico do SARS-CoV-2, em que o próprio paciente expele a amostra facilmente. Por ser coletada sem o auxílio de profissionais da área da saúde, há uma chance menor de contágio da doença comparado ao método de amostras de *swab* nasofaríngeos e posterior faríngea. Nestes últimos as coletas são feitas por profissionais com capacitação para tal e, ainda, geram um maior desconforto aos pacientes, principalmente na área nasofaríngea, como maior sensibilidade das mucosas respiratórias podendo induzir a geração de espirros, tosses e até produzir traumas nas mesmas (Yan et al., 2020).

Com isso, pela Covid-19 possuir uma múltipla apresentação de sintomatologia clínica, é imprescindível que se tenha ótimos métodos para diagnosticar e acompanhar os casos infectados pela mesma. Portanto, o objetivo desta revisão integrativa é avaliar o potencial da saliva como um método diagnóstico para a Covid-19, assim como o seu papel para o controle e monitoramento da mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

A revisão integrativa foi caracterizada pela realização de uma busca por artigos científicos em quatro bases de dados eletrônicos, sendo elas: PubMed, Google Acadêmico, SciELO e Biblioteca Virtual de Saúde. Em todas essas bases de dados não houveram especificações quanto ao ano de publicação. Os artigos que contemplassem estudo de coorte, série de casos, estudo de caso, estudo transversal, comparativo e ensaios clínicos randomizados foram incluídos nesta revisão.

Como palavras chave e escolha dos idiomas a serem incluídos em cada busca, seguem abaixo as especificidades de cada plataforma; ainda, em todas as bases de dados utilizados o operador booleano “AND” ou “e”, dependendo da plataforma buscada, foram utilizados para associar as palavras-chave.

- a) PubMed: foram utilizadas as palavras chaves “SARS-CoV-2”, “saliva”, “diagnosis”, “viral load” e “coronavirus Covid-19” dos quais foram incluídos resultados escritos na língua inglesa.
- b) Google acadêmico, SciELO e Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), os resultados foram restritos à língua portuguesa, utilizando-se as palavras-chaves “saliva”, “covid” e “diagnóstico”.

A busca foi programada para ser realizada em um único dia por apenas um pesquisador responsável pela execução da mesma (BPN). Primeiramente, os títulos eram lidos e avaliados quanto a contemplação dos critérios pré-estabelecidos. Posteriormente, aqueles incluídos, tiveram seus resumos lidos para observância da temática pesquisada.

Ainda, aqueles que permaneceram após a leitura do resumo tiveram sua leitura na íntegra realizada. Quando surgiram dúvidas na leitura dos resumos ou dos artigos na íntegra, um segundo pesquisador (BFO) era acionado para discussão e tomada de decisão quanto a permanência do artigo na revisão final, assim como, interpretação dos resultados dos artigos.

Ainda, quanto ao tipo de artigos, foram exclusas cartas ao editor, *preprints*, revisões de literatura, sistemática e integrativa. Aqueles artigos que não estavam no idioma estabelecido, duplicados ou fora do tema, por exemplo, a utilização da saliva para diagnóstico de outros vírus que não sejam o SARS-CoV-2, foram excluídos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização da busca em março de 2022, leitura dos títulos e resumos com a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão obteve-se a seleção de 45 artigos, sendo 36 incluídos pelo PubMed, dois por meio da Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), dois pela SciELO e cinco selecionados pelo Google Acadêmico (Figura 1).

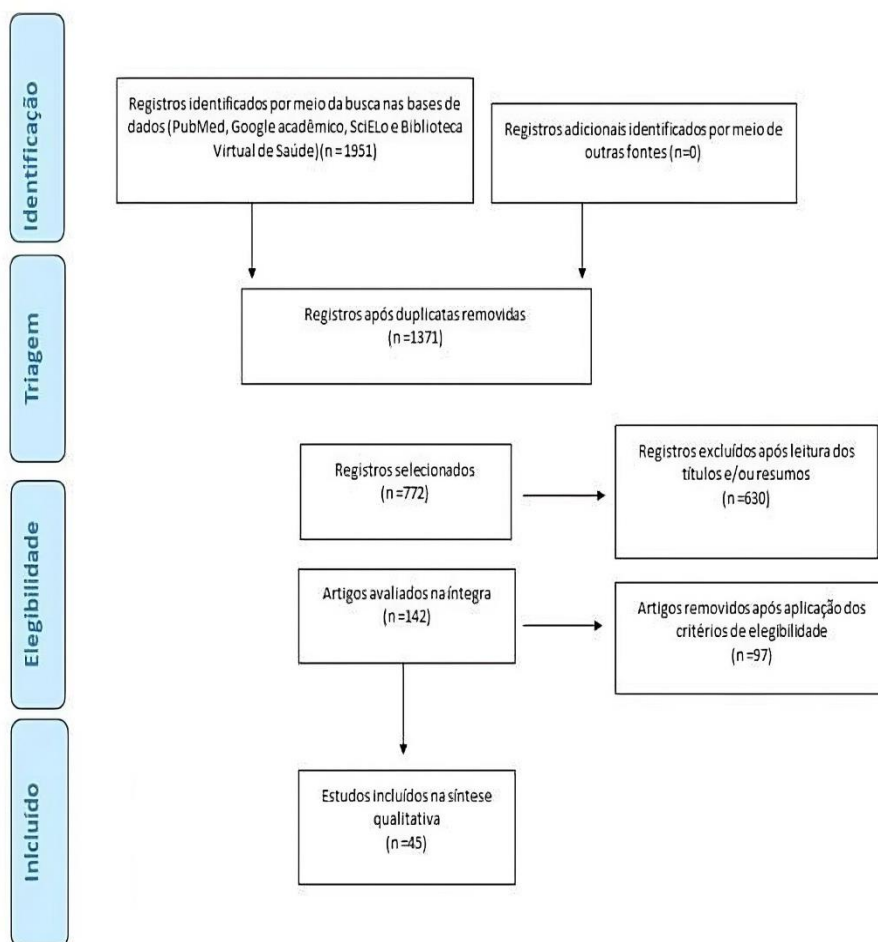


Figura 1. Fluxograma da busca da revisão integrativa.

Fonte: Os autores.

Nos resultados encontrados, também foram incluídos estudos com base na eficácia de amostras salivares como um método de diagnóstico da Covid-19 e sua comparação com outros métodos diagnósticos. Os estudos apresentados correlacionaram a carga viral pelo período em que esses exames foram acompanhados.

Da totalidade dos artigos selecionados, foram 14 que afirmaram que a saliva é um ótimo método diagnóstico no período inicial da doença, dado que os exames mostraram carga viral maior presente neste fluido na primeira semana após o início dos sintomas. Por outro lado, três artigos de 45 consideraram a saliva ineficaz para o diagnóstico em decorrência de “falsos negativos”, ocorridos com frequência após a 1.^a semana do contágio do vírus.

Quadro 1

Artigos encontrados na revisão que analisaram a saliva como amostra diagnóstica da Covid-19.

Evidência científica	Primeiro autor/ano	Região geográfica	Título do artigo	Parâmetros avaliados	Conclusões
Estudo de coorte	To et al. (2020)	The University of Hong Kong, Pokfulam, Hong Kong Special, Administrative Region, China.	Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo de coorte	Hung et al. (2020)	The University of Hong Kong, Pokfulam, Hong Kong Special Administrative Region, China.	Early-morning vs spot posterior oropharyngeal saliva for diagnosis of SARS-CoV-2 infection: implication of timing of specimen collection for community-wide screening	1. Tempo 2. Carga viral	Método eficaz.
Série de casos	Yoon et al. (2020)	University Guro Hospital, Korea University, College of Medicine, Korea.	Clinical significance of a high SARS-CoV-2 viral load in the saliva	1. Tempo 2. Carga viral	Método alternativo (primeiros dias após os sintomas).
Estudo de caso	To et al. (2020)	The University of Hong Kong, Hong Kong Special Administrative Region, China.	Consistent detection of 2019 novel Coronavirus in saliva	1. Tempo 2. Carga viral	Método alternativo (casos de contra-indicação de coletas de amostras na área nasofaríngea).
Estudo de coorte	Kam et al. (2020)	National University of Singapore, Singapore.	Clinical utility of buccal swabs for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 detection in Coronavirus disease 2019 – infected children	1. Tempo 2. Carga viral	Método inviável para o diagnóstico em crianças.
Série de casos	Azzi et al. (2020)	Department of Medicine and Surgery, University of Insubria, Italy.	Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo, necessário realizar maiores estudos.
Estudo comparativo	Kim et al. (2020)	Chonnam National University Medical School, Republic of Korea.	Viral load kinetics of SARS-CoV-2 infection in saliva in Korean patients: a prospective multi-center comparative study	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método ineficaz.
Estudo prospectivo	Byrne et al. (2020)	Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK.	Saliva alternative to upper respiratory swabs for SARS-CoV-2 diagnosis	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.

Continua...

Continuação do Quadro 1.

Estudo prospectivo	Barat et al. (2021)	National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.	Pooled saliva specimens for SARS-CoV-2 testing	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo de coorte	Procop et al. (2020)	Cleveland Clinic, Cleveland, Ohio, USA.	A direct comparison of enhanced saliva to nasopharyngeal swab for the detection of SARS-CoV-2 in symptomatic patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (maior eficácia nos primeiros dias).
Estudo de coorte	Contreras et al. (2020)	Instituto de Biotecnología Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.	Saliva sampling and its direct lysis, an excellent option to increase the number of SARS-CoV-2 diagnostic tests in settings with supply shortages	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (viável em países subdesenvolvidos).
Estudo transversal	Pasomsub et al. (2021)	Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.	Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (em locais com recursos limitados).
Estudo de caso	Yee et al. (2021)	Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, California, USA.	Saliva is a promising alternative specimen for the detection of SARS-CoV-2 in children and adults	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (casos de contraindicação de coletas de amostras na área nasofaríngea).
Relato de caso	Tajima et al. (2020)	Hamamatsu Medical Center, Japan.	A case report of Sars-cov-2 confirmed in saliva specimens up to 37 days after onset: proposal of saliva specimens for Covid-19 diagnosis and virus monitoring	1. Tempo 2. Diferentes métodos	Método eficaz e viável para diagnóstico inicial da doença.
Estudo comparativo	Babady et al. (2020)	Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) in New York City.	Performance of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 real-time RT-PCR tests on oral rinses and saliva samples	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo transversal prospectivo	Skolimowska et al. (2020)	Imperial College Healthcare NHS Trust, London, UK.	Non-invasive saliva specimens for the diagnosis of Covid-19: caution in mild outpatient cohorts with low prevalence	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método complementar (não substitui o método por <i>swab</i> nasal).
Estudo transversal prospectivo	Savela et al. (2021)	California Institute of Technology, 1200 E. California Blvd., Pasadena, CA, USA.	SARS-CoV-2 is detectable using sensitive RNA saliva testing days before viral load reaches detection range of low-sensitivity nasal swab tests	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo.
Estudo prospectivo	Echavarría et al. (2021)	University Hospital, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.	Self-collected saliva for SARS-CoV-2 detection: A prospective study in the emergency room	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo, necessário realizar maiores estudos.

Continua...

Continuação do Quadro 1.

Estudo observacional	Justo et al. (2021)	Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Medicina, São Paulo, SP, Brasil.	Comparison of viral load between saliva and nasopharyngeal swabs for SARS-CoV-2: the role of days of symptoms onset on diagnosis	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo transversal	Yokota et al. (2021)	Hokkaido University Faculty of Medicine, Sapporo, Japan.	Equivalent SARS-CoV-2 viral loads by PCR between nasopharyngeal swab and saliva in symptomatic patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo.
Estudo de coorte emparelhado	Guzmán-Ortiz et al. (2021)	Hospital Infantil de México Federico Gómez, México City, México.	Sensitivity of the molecular test in saliva for detection of Covid-19 in pediatric patients with concurrent conditions	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo.
Estudo comparativo	Güçlü et al. (2020)	Sakarya University Training and Research Hospital, Clinic of Emergency Medicine, Sakarya, Turkey.	Comparison of saliva and oro-nasopharyngeal swab sample in the molecular diagnosis of Covid-19	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo.
Estudo de coorte	Lazari et al. (2022)	GlycoProteomics Laboratory, Department of Parasitology, ICB, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.	MALDI-TOF mass spectrometry of saliva samples as a prognostic tool for Covid-19	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo de coorte	Miller et al. (2021)	Department of Medicine, Columbia University Irving Medical Center, New York, New York, USA.	Oral microbiome alterations and SARS-CoV-2 saliva viral load in patients with Covid-19	1. Tempo 2. Carga viral	Método alternativo (como uma estratégia para auxiliar na transmissão e possíveis complicações da doença).
Estudo comparativo	Abasiyanik et al. (2021)	Institutional Review Board (IRB) of the University of Chicago, USA.	Sensitive detection and quantification of SARS-CoV-2 in saliva	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Série de casos	Jeong et al. (2020)	Department of Internal Medicine, Chungbuk National University College of Medicine and Medical Research Institute, Cheongju, Republic of Korea.	Viable SARS-CoV-2 in various specimens from Covid-19 patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo.
Estudo transversal	Li et al. (2021)	Republic of China.	Analysis of viral load in different specimen types and serum antibody levels of Covid-19 patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método ineficaz.
Estudo de coorte	Yokota et al. (2021)	Department of Biostatistics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan.	Mass screening of asymptomatic persons for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 using saliva	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo (indicado para pacientes assintomáticos).

Continua...

Continuação do Quadro 1.

Estudo caso tipo controle	Savela et al. (2021)	California Institute of Technology, Pasadena, California, USA.	Quantitative SARS-CoV-2 viral-load curves in paired saliva and nasal swabs inform appropriate respiratory sampling site and analytical test sensitivity required for earliest viral detection	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo.
Ensaio clínico randomizado	Carrouel et al. (2021)	University Claude Bernard Lyon 1, University of Lyon, Lyon, France.	Saliva quantification of SARS-CoV-2 in real-time PCR from asymptomatic or mild Covid-19 adults	1. Tempo 2. Carga viral	Método alternativo.
Estudo transversal	Esteves et al. (2022)	Universidade Católica Portuguesa, Faculty of Dental Medicine (FMD), Center for Interdisciplinary Research in Health (CIIS), Viseu, Portugal.	Population wide testing pooling strategy for SARS-CoV-2 detection using saliva	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo prospectivo	Mohd Thabit et al. (2021)	Infectious Disease Department, Sungai Buloh Hospital, Ministry of Health Malaysia, Malaysia.	Diagnostic accuracy of fresh drooled saliva for SARS-CoV-2 in travelers	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método complementar (não substitui o método por <i>swab</i> nasal).
Ensaio clínico	Schaaf et al. (2021)	Department of Biological Sciences, Olivet Nazarene University, Bourbonnais, Illinois, USA.	Routine, cost-effective SARS-CoV-2 surveillance testing using pooled saliva limits viral spread on a residential college campus	1. Tempo 2. Carga viral	Método alternativo (em locais com recursos limitados).
Ensaio clínico	Callahan et al. (2021)	Department of Pathology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, Massachusetts, USA.	Saliva is comparable to nasopharyngeal swabs for molecular detection of SARS-CoV-2	1. Tempo 2. Carga viral	Método eficaz.
Estudo comparativo	Ota et al. (2021)	Department of Laboratory Medicine, Nagasaki University Hospital, Nagasaki, Japan.	Detection of SARS-CoV-2 using qRT-PCR in saliva obtained from asymptomatic or mild COVID-19 patients, comparative analysis with matched nasopharyngeal samples	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo prospectivo	Carrouel et al. (2021)	Laboratory “Health Systemic Process”, EA4129, University Lyon 1, 69008 Lyon, France.	Performance of self-collected saliva testing compared with nasopharyngeal swab testing for the detection of SARS-CoV-2	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo de coorte	Lopes et al. (2021)	Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti/Hemorio, Rua Frei Caneca, 8, Centro, Rio de Janeiro.	A large cohort study of SARS-CoV-2 detection in saliva: a non-invasive alternative diagnostic test for patients with bleeding disorders	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo (indicado para pacientes assintomáticos).

Continua...

Continuação do Quadro 1.

Estudo prospectivo	Mestdagh et al. (2021)	Biogazelle,* Zwijnaarde; the Department of Biomolecular Medicine.	Evaluating diagnostic accuracy of saliva sampling methods for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 reveals differential sensitivity and association with viral load	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo, em casos assintomáticos, necessário realizar maiores estudos.
Estudo transversal	Uddin et al. (2021)	Infectious Diseases Division, icddr,b, Dhaka, Bangladesh.	Diagnostic performance of self- collected saliva versus nasopharyngeal swab for the molecular detection of SARS- CoV-2 in the clinical setting	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (primeiros dias após os sintomas).
Estudo comparativo	Procop et al. (2020)	Pathology and Laboratory Medicine Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, Ohio, USA.	A direct comparison of enhanced saliva to nasopharyngeal swab for the detection of SARS-CoV-2 in symptomatic patients	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo (indicado para pacientes assintomáticos).
Ensaio clínico	Fougère et al. (2021)	Pediatric Infectious Diseases and Vaccinology Unit, Department Women- Mother-Child, Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland.	Performance of RT- PCR on saliva specimens compared with nasopharyngeal swabs for the detection of SARS- CoV-2 in children: a prospective comparative clinical trial	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo.
Ensaio clínico comparativo	Alemaný et al. (2021)	Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona Institute for Global Health, Rosselló, Badalona, Spain.	Self-collected mid- nasal swabs and saliva specimens, compared with nasopharyngeal swabs, for SARS- CoV-2 detection in mild COVID-19 patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método alternativo (importante em casos de testagem maciça da população).
Estudo transversal	Beyene et al. (2021)	Armauer Hansen Research Institute, Jumma Road ALERT Compound, P.O. Box address 1005, Addis Ababa, Ethiopia.	Saliva is superior over nasopharyngeal swab for detecting SARS-CoV-2 in COVID-19 patients	1. Tempo 2. Carga viral 3. Diferentes métodos	Método eficaz.
Estudo de coorte	Johnson et al. (2021)	Division of Epidemiology and Community Health, School of Public Health, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA.	Saliva testing is accurate for early- stage and presymptomatic COVID-19	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo (importante em casos de testagem maciça da população).
Estudo transversal de centro único	Gupta et al. (2021)	Departments of Medicine, Microbiology & Biostatistics, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India.	Gargle lavage & saliva: feasible & cheaper alternatives to nasal & throat swabs for diagnosis of COVID-19	1. Carga viral 2. Diferentes métodos	Método alternativo.

Fonte: Os autores.

Conforme exposto no Quadro 1, um estudo realizado com crianças diagnosticadas com a Covid-19 considerou as amostras salivares com taxa de carga viral inferior quando comparada com amostras nasofaríngeas (Kam et al., 2020). Ademais, foram 27 artigos que demonstraram a saliva

apenas como um método alternativo para pacientes que tenham contra-indicação às coletas na área nasofaríngea ou em locais que os profissionais de saúde não possam atuar diretamente, uma vez que os próprios pacientes conseguem fazer a coleta de suas amostras salivares.

Ao longo da pandemia da Covid-19, diversos momentos foram vivenciados em torno da doença, como um maior conhecimento sobre sua patofisiologia, surgimento de vacinas e oscilações na incidência de novos casos da infecção causada pelo SARS-CoV-2. Contudo a continuidade da necessidade de métodos diagnósticos para o entendimento dos cenários epidemiológicos e, conseqüentemente, elaboração de estratégias em saúde é fundamental.

A presença do SARS-CoV-2 na saliva pode ser entendida pela sua afinidade com a Enzima Conversora de Angiotensina-2 (ECA-2), TMPRSS2 e TMPRSS4 (Huang et al., 2021). Esses receptores podem ser encontrados em todo o trato respiratório, sendo ele superior ou inferior (Xu, Li, Gan, Du & Yao, 2020; Yan et al., 2020; Matuck et al., 2021). Ainda, a cavidade bucal apresenta múltiplos sítios suscetíveis a serem infectados pelo vírus, dentre eles: língua, palato duro e mole, mucosa bucal e glândulas salivares menores (Zhong et al., 2020; Huang et al., 2021).

Um alerta da reposição constante do vírus na saliva é que as glândulas salivares maiores como a parótida, submandibular e, também, as salivares menores são um reservatório para a replicação do SARS-CoV-2 (Xu et al., 2020; Matuck et al., 2021). Além da produção de saliva na cavidade oral aponta-se que a coleta matinal de amostras deste fluido na região orofaríngea pode apresentar maior sensibilidade em relação ao swab de nasofaringe, isso por que é sugerido que os indivíduos ao dormirem na posição supina favorecem ao escorrimento de secreções da nasofaringe, assim como secreções oriundas das vias aéreas inferiores com movimentações via ciliares se deslocariam ao trato respiratório superior (Hung et al., 2020).

Tendo em vista as coletas de amostras para triagem dos casos da Covid-19, a coleta de material biológico de nasofaringe seguido pela análise quantitativa através do RT-PCR é considerada o padrão ouro (Heikkinen, Marttila, Salmi & Ruuskanen, 2002; Lee et al., 2021). Apesar dessa designação alguns pontos negativos dessa estratégia podem ser considerados como a necessidade de capacitação de uma equipe para as coletas, a exposição dos mesmos ao risco de infecção, em períodos pandêmicos com escassez de recursos pode ocorrer a falta de cotonetes e EPIs, causar desconforto aos pacientes, ser contra-indicado nos casos de coagulopatas ou anticoagulados e com desvio de septo nasal significativo (Kim et al., 2017; Li, Liu, Yu, S. L. Tang & Tang, 2020; Lippi, Simundic & Plebani, 2020; Sri Santosh, Parmar, Anand, Srikanth & Saritha, 2020; WHO, 2020).

Em contrapartida, a saliva é de fácil coleta podendo ser feita pelo próprio paciente, apresenta uma complexa mistura com secreções de glândulas salivares, fluido crevicular, escarro e expectorações das vias respiratórias (Miller et al., 2010). Ainda, pode ser utilizada para o diagnóstico de diversas patologias orais ou sistêmicas como a dengue, chikunguya, Ebola, Zika e Febre amarela, síndrome respiratórias grave aguda (SARS) e Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) (Niedrig, Patel, El Wahed, Schädler & Yactayo, 2018).

Na pandemia do SARS-CoV-2, diversos estudos apontam a saliva como uma amostra alternativa para o diagnóstico da Covid-19 (Jamal et al., 2020; To et al., 2020; Wong et al., 2020; Zheng et al., 2020;) o que foi semelhante aos resultados da nossa revisão (Babady et al., 2020; Byerne et al., 2020; Hung et al., 2020; To et al., 2020; Barat et al., 2021).

Em pacientes hospitalizados com até uma semana de início de sintomas, foram coletados simultaneamente amostras de swab de nasofaringe e saliva matinal, esta última apresentou sensibilidade e carga viral significativamente maior que o swab nasofaríngeo ($p < 0,001$) (Beyene et al., 2021).

Em outro estudo com 70 pacientes internados que realizaram a autocoleta de saliva com uma coleta concomitante de swab nasofaríngeo por profissionais da saúde, demonstrou-se que a amostra salivar apresentou maior sensibilidade ao SARS-CoV-2, positividade maior nas amostras entre o primeiro e quinto dia e após 10 dias do início dos sintomas quando comparado ao swab nasofaríngeo. A comparação dessas duas amostras apresentou similaridade no comportamento da redução da carga viral em paralelo com a redução dos sintomas clínicos dos pacientes (Wyllie et al., 2020). Além da

aplicabilidade em pacientes sintomáticos sob internação hospitalar a coleta de amostras salivares demonstrou ser efetiva em estudos populacionais. Em uma testagem em massa em pacientes assintomáticos, apresentou sensibilidade de 92% enquanto o swab nasofaríngeo 86%, contudo, ambos apresentaram especificidade maior do que 99,9% (Yokota et al., 2021).

Apesar de inúmeros estudos apresentando a utilidade das amostras salivares em relação a coleta nasofaríngeo nesta revisão três estudos apresentaram este fluido biológico como ineficaz (Kam et al., 2020; Kim et al., 2020; Li et al., 2021). Para Kam et al. (2020), a saliva apresentou valores médios de carga viral menores em pacientes pediátricos, assim como diferenças substanciais nos valores médios do *cycle threshold* (Ct) em relação ao swab nasofaríngeo, sugerindo não ser um bom parâmetro de triagem em crianças, porém os autores ressaltam que amostra do estudo continha 11 crianças.

No estudo de Kim et al. (2020) com 15 crianças sob internação em 4 hospitais diferentes, foi demonstrado que a saliva apresentava valores limiares semelhantes de Ct em relação aos *swabs* nasofaríngeos, porém a sensibilidade salivar foi menor ao SARS-CoV-2, principalmente nos primeiros 5 dias iniciais dos sintomas.

Por fim, no estudo de Li et al. (2021) com 37 pacientes em internação hospitalar, foram coletadas amostras de swab nasofaríngeo, anal, salivar, sangue e urina. Neste caso, o fluido oral demonstrou apenas 16,22% de positividade das amostras para o RNA viral enquanto o swab nasofaríngeo e anal 54,05% e 24,32%, respectivamente.

Neste contexto, os três trabalhos supracitados sugerem a tendência de que as amostras salivares apresentam menor sensibilidade do SARS-CoV-2 do que o swab nasofaríngeo. Ainda, dois deles envolvem pacientes pediátricos, o outro é com adulto, porém vale ressaltar que os três trabalhos apresentam amostras pequenas e dificuldades de compor uma heterogeneidade da mesma em relação a gravidade dos casos.

Esta revisão integrativa incluiu diversos tipos de estudos clínicos e excluiu revisões, contemplando estudos desde o início da pandemia da Covid-19 até março de 2022. Como limitações deste estudo, pode-se destacar o caráter não sistemático da mesma e a ausência de meta-análise.

CONCLUSÃO

A saliva demonstrou ser uma boa opção para o diagnóstico inicial da Covid-19, no período de 5-7 dias após o contágio da doença e para o acompanhamento/monitoramento dos pacientes. Por outro lado, apesar das limitações dos estudos encontrados, a amostra salivar em pacientes pediátricos sugere ter baixa sensibilidade.

REFERÊNCIAS

- Alemany, A., Millat-Martinez, P., Ouchi, D., Corbacho-Monné, M., Bordoy, A. E., Esteban, C., ... Mitjà, O. (2021). Self-collected mid-nasal swabs and saliva specimens, compared with nasopharyngeal swabs, for SARS-CoV-2 detection in mild COVID-19 patients. *The Journal of Infection*, 83(6), pp. 709–737.
- Azzi, L., Carcano, G., Gianfagna, F., Grossi, P., Gasperina, D. D., Genoni, A., ... Tagliabue, A. (2020). Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. *Journal of Infection*, 81(1), pp. e45-e50.
- Babady, N. E., McMillen, T., Jani, K., Viale, A., Robilotti, E. V., Aslam, A., ... Kamboj, M. (2021). Performance of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 real-time RT-PCR tests on oral rinses and saliva samples. *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD*, 23(1), pp. 3–9.
- Barat, B., Das, S., De Giorgi, V., Henderson, D. K., Kopka, S., Lau, A. F., ... Frank, K. M. (2021). Pooled saliva specimens for SARS-CoV-2 testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(3), e02486-20.

- Beyene, G. T., Alemu, F., Kebede, E. S., Alemayehu, D. H., Seyoum, T., Tefera, D. A., & Mulu, A. (2021). Saliva is superior over nasopharyngeal swab for detecting SARS-CoV2 in COVID-19 patients. *Scientific Reports*, *11*(1), 22640.
- Byrne, R. L., Kay, G. A., Kontogianni, K., Aljayyousi, G., Brown, L., Collins, A. M., ... Cubas-Atienzar, A. I. (2020). Saliva alternative to upper respiratory swabs for SARS-CoV-2 diagnosis. *Emerging Infectious Diseases*, *26*(11), pp. 2770–2771.
- Callahan, C., Ditelberg, S., Dutta, S., Littlehale, N., Cheng, A., Kupczewski, K., ... Arnaout, R. (2021). Saliva is comparable to nasopharyngeal swabs for molecular detection of SARS-CoV-2. *Microbiology Spectrum*, *9*(1), e0016221.
- Carrouel, F., Gadea, E., Esparcieux, A., Dimet, J., Langlois, M. E., Perrier, H., ... Bourgeois, D. (2022). Saliva quantification of SARS-CoV-2 in real-time PCR from asymptomatic or mild COVID-19 adults. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 786042.
- Carrouel, F., Valette, M., Perrier, H., Bouscambert-Duchamp, M., Dussart, C., Tramini, P., & Bourgeois, D. (2021). Performance of self-collected saliva testing compared with nasopharyngeal swab testing for the detection of SARS-CoV-2. *Viruses*, *13*(5), 895.
- Echavarria, M., Reyes, N. S., Rodriguez, P. E., Ypas, M., Ricarte, C., Rodriguez, M. P., ... Carballal, G. (2021). Self-collected saliva for SARS-CoV-2 detection: a prospective study in the emergency room. *Journal of Medical Virology*, *93*(5), pp. 3268–3272.
- Ertugrul G., Koroglu M., Yurumez Y., Toptan H., Kose E., Guneyisu F., & Karabay O. (2020). Comparison of saliva and oro-nasopharyngeal swab sample in the molecular diagnosis of COVID-19. *Revista da Associação Médica Brasileira*, pp. 1116-1121.
- Esteves, E., Mendes, A. K., Barros, M., Figueiredo, C., Andrade, J., Capelo, J., ... Rosa, N. (2022). Population wide testing pooling strategy for SARS-CoV-2 detection using saliva. *PloS One*, *17*(1), e0263033.
- Fougère, Y., Schwob, J. M., Miauton, A., Hoegger, F., Opota, O., Jatou, K., ... Asner, S. A. (2021). Performance of RT-PCR on saliva specimens compared with nasopharyngeal swabs for the detection of SARS-CoV-2 in children: a prospective comparative clinical trial. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, *40*(8), pp. e300–e304.
- Gupta, A., Mittal, A., Dhakad, S., Brijwal, M., Soneja, M., Srigan, D., ... Wig, N. (2021). Gargle lavage & saliva: feasible & cheaper alternatives to nasal & throat swabs for diagnosis of COVID-19. *The Indian Journal of Medical Research*, *153*(5&6), pp. 665–670.
- Guzmán-Ortiz, A. L., Nevárez-Ramírez, A. J., López-Martínez, B., Parra-Ortega, I., Angeles-Floriano, T., Martínez-Rodríguez, N., ... Quezada, H. (2021). Sensitivity of the molecular test in saliva for detection of COVID-19 in pediatric patients with concurrent conditions. *Frontiers in Pediatrics*, *9*, 642781.
- Heikkinen, T., Marttila, J., Salmi, A. A., & Ruuskanen, O. (2002). Nasal swab versus nasopharyngeal aspirate for isolation of respiratory viruses. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(11), pp. 4337–4339.
- Huang, N., Pérez, P., Kato, T., Mikami, Y., Okuda, K., Gilmore, R. C., ... Byrd, K. M. (2021). SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva. *Nature Medicine*, *27*(5), pp. 892–903.

- Hung, D. L., Li, X., Chiu, K. H., Yip, C. C., To, K. K., Chan, J. F., ... Yuen, K. Y. (2020). Early-morning vs spot posterior oropharyngeal saliva for diagnosis of SARS-CoV-2 infection: implication of timing of specimen collection for community-wide screening. *Open Forum Infectious Diseases*, 7(6), ofaa210.
- Jamal, A. J., Mozafarhashjin, M., Coomes, E., Powis, J., Li, A. X., Paterson, A., ... Toronto (2021). Sensitivity of nasopharyngeal swabs and saliva for the detection of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(6), pp. 1064–1066.
- Jeong, H. W., Kim, S. M., Kim, H. S., Kim, Y. I., Kim, J. H., Cho, J. Y., ... Choi, Y. K. (2020). Viable SARS-CoV-2 in various specimens from COVID-19 patients. *Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(11), pp. 1520–1524.
- Johnson, A. J., Zhou, S., Hoops, S. L., Hillmann, B., Schomaker, M., Kincaid, R., ... Nelson, A. C. (2021). Saliva testing is accurate for early-stage and presymptomatic COVID-19. *Microbiology Spectrum*, 9(1), e0008621.
- Justo, A. F. O., Bueno, M. S., Barbosa, G. R., Perosa, A. H., Carvalho, J. M., & Bellei, N. (2021). Comparison of viral load between saliva and nasopharyngeal swabs for SARS-CoV2: the role of days of symptoms onset on diagnosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 116, e210018.
- Kam, K. Q., Yung, C. F., Maiwald, M., Chong, C. Y., Soong, H. Y., Loo, L. H., ... Thoon, K. C. (2020). Clinical utility of buccal swabs for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 detection in Coronavirus disease 2019-infected children. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 9(3), pp. 370–372.
- Kim, S. E., Lee, J. Y., Lee, A., Kim, S., Park, K. H., Jung, S. I., ... Jang, H. C. (2020). Viral load kinetics of SARS-CoV-2 infection in saliva in Korean patients: a prospective multi-center comparative study. *Journal of Korean Medical Science*, 35(31), e287.
- Kim, Y. G., Yun, S. G., Kim, M. Y., Park, K., Cho, C. H., Yoon, S. Y., ... Lim, C. S. (2016). Comparison between saliva and nasopharyngeal swab specimens for detection of respiratory viruses by multiplex reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(1), pp. 226–233.
- Lee, R. A., Herigon, J. C., Benedetti, A., Pollock, N. R., & Denkinger, C. M. (2021). Performance of saliva, oropharyngeal swabs, and nasal swabs for SARS-CoV-2 molecular detection: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(5), e02881-20.
- Li, H., Liu, S. M., Yu, X. H., Tang, S. L., & Tang, C. K. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5), 105951.
- Li, L., Tan, C., Zeng, J., Luo, C., Hu, S., Peng, Y., ... Liu, Z. (2021). Analysis of viral load in different specimen types and serum antibody levels of COVID-19 patients. *Journal of Translational Medicine*, 19(1), 30.
- Limits Viral Spread on a Residential College Campus. (2021). *Microbiology Spectrum*, 9(2), e0108921. doi: 10.1128/Spectrum.01089-21

- Lippi, G., Simundic, A. M., & Plebani, M. (2020). Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 58(7), pp. 1070–1076.
- Lopes, J., Costa Silva, C. A., Cunha, R. G., Soares, A. M., Lopes, M., Conceição Neto, O. C., ... Amado Leon, L. A. (2021). A large cohort study of SARS-CoV-2 detection in saliva: a non-invasive alternative diagnostic test for patients with bleeding disorders. *Viruses*, 13(12), 2361. <https://doi.org/10.3390/v13122361>
- Matuck, B. F., Dolhnikoff, M., Duarte-Neto, A. N., Maia, G., Gomes, S. C., Sendyk, D. I., ... Silva, L. (2021). Salivary glands are a target for SARS-CoV-2: a source for saliva contamination. *The Journal of Pathology*, 254(3), pp. 239–243.
- Mestdagh, P., Gillard, M., Dhillon, S. K., Pirnay, J. P., Poels, J., Hellemans, J., ... Vandesompele, J. (2021). Evaluating diagnostic accuracy of saliva sampling methods for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 reveals differential sensitivity and association with viral load. *The Journal of Molecular Diagnostics: JMD*, 23(10), pp. 1249–1258.
- Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., ... McDevitt, J. T. (2010). Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in Medicine*, 4(1), pp. 171–189.
- Miller, E. H., Annavajhala, M. K., Chong, A. M., Park, H., Nobel, Y. R., Soroush, A., ... Abrams, J. A. (2021). Oral microbiome alterations and SARS-CoV-2 saliva viral load in patients with COVID-19. *Microbiology Spectrum*, 9(2), e0005521.
- Mohd Thabit, A. A., Peariasamy, K. M., Kuan, P. X., Fern Ying, D. K., Nheu, N., Cyncynatus, C., ... Chidambaram, S. K. (2021). Diagnostic accuracy of fresh drooled saliva for SARS-CoV-2 in travelers. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 43, 102144.
- Moreno-Contreras, J., Espinoza, M. A., Sandoval-Jaime, C., Cantú-Cuevas, M. A., Barón-Olivares, H., Ortiz-Orozco, O. D., ... López, S. (2020). Saliva sampling and its direct lysis, an excellent option to increase the number of SARS-CoV-2 diagnostic tests in settings with supply shortages. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(10), e01659-20.
- Niedrig, M., Patel, P., El Wahed, A. A., Schädler, R., & Yactayo, S. (2018). Find the right sample: a study on the versatility of saliva and urine samples for the diagnosis of emerging viruses. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 707.
- Ota, K., Yanagihara, K., Sasaki, D., Kaku, N., Uno, N., Sakamoto, K., ... Kohno, S. (2021). Detection of SARS-CoV-2 using qRT-PCR in saliva obtained from asymptomatic or mild COVID-19 patients, comparative analysis with matched nasopharyngeal samples. *PloS one*, 16(6), e0252964.
- Pasomsub, E., Watcharananan, S. P., Boonyawat, K., Janchompoo, P., Wongtabtim, G., Suksuwan, W., ... Phuphuakrat, A. (2021). Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study. *Clinical Microbiology and Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 27(2), 285.e1–285.e4.

- Procop, G. W., Shrestha, N. K., Vogel, S., Van Sickle, K., Harrington, S., Rhoads, D. D., ... Terpeluk, P. (2020). A direct comparison of enhanced saliva to nasopharyngeal swab for the detection of SARS-CoV-2 in symptomatic patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(11), e01946-20.
- Savelle, E. S., Vilorio Winnett, A., Romano, A. E., Porter, M. K., Shelby, N., Akana, R., ... Ismagilov, R. F. (2022). Quantitative SARS-CoV-2 viral-load curves in paired saliva samples and nasal swabs inform appropriate respiratory sampling site and analytical test sensitivity required for earliest viral detection. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(2), e0178521.
- Sri Santosh, T., Parmar, R., Anand, H., Srikanth, K., & Saritha, M. (2020). A review of salivary diagnostics and its potential implication in detection of COVID-19. *Cureus*, 12(4), e7708.
- To, K. K., Tsang, O. T., Yip, C. C., Chan, K. H., Wu, T. C., Chan, J. M., ... Yuen, K. Y. (2020). Consistent detection of 2019 novel Coronavirus in saliva. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(15), pp. 841–843.
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Leung, W. S., Tam, A. R., Wu, T. C., Lung, D. C., ... Yuen, K. Y. (2020). Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(5), pp. 565-574.
- Uddin, M., Shirin, T., Hossain, M. E., Alam, A. N., Ami, J. Q., Hasan, R., ... Banu, S. (2021). Diagnostic performance of self-collected saliva versus nasopharyngeal swab for the molecular detection of SARS-CoV-2 in the clinical setting. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e0046821.
- Vander Schaaf, N. A., Fund, A. J., Munnich, B. V., Zastrow, A. L., Fund, E. E., Senti, T. L., ... Sharda, D. R. (2021). Routine, cost-effective SARS-CoV-2 surveillance testing using pooled saliva limits viral spread on a residential college campus. *Microbiology Spectrum*, 9(2), e0108921.
- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., ... Peng, Z. (2020). Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel Coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 323(11), pp. 1061–1069.
- Wong, S., Tse, H., Siu, H. K., Kwong, T. S., Chu, M. Y., Yau, F., ... Lung, D. C. (2020). Posterior oropharyngeal saliva for the detection of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(11), pp. 2939–2946.
- Wyllie, A. L., Fournier, J., Casanovas-Massana, A., Campbell, M., Tokuyama, M., Vijayakumar, P., ... Ko, A. I. (2020). Saliva or nasopharyngeal swab specimens for detection of SARS-CoV-2. *The New England Journal of Medicine*, 383(13), pp. 1283–1286.
- Xu, H., Zhong, L., Deng, J., Peng, J., Dan, H., Zeng, X., ... Chen, Q. (2020). High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science*, 12(8).
- Xu, J., Li, Y., Gan, F., Du, Y., & Yao, Y. (2020). Salivary glands: potential reservoirs for COVID-19 asymptomatic infection. *Journal of Dental Research*, 99(8), 989.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), pp. 1444–1448.

- Yee, R., Truong, T. T., Pannaraj, P. S., Eubanks, N., Gai, E., Jumarang, J., ... Dien Bard, J. (2021). Saliva is a promising alternative specimen for the detection of SARS-CoV-2 in children and adults. *Journal of Clinical Microbiology*, *59*(2), e02686-20.
- Yokota, I., Hattori, T., Shane, P. Y., Konno, S., Nagasaka, A., Takeyabu, K., ... Teshima, T. (2021). Equivalent SARS-CoV-2 viral loads by PCR between nasopharyngeal swab and saliva in symptomatic patients. *Scientific Reports*, *11*(1), 4500.
- Yokota, I., Shane, P. Y., Okada, K., Unoki, Y., Yang, Y., Inao, T., ... Teshima, T. (2021). Mass screening of asymptomatic persons for severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 using saliva. *Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *73*(3), pp. e559–e565.
- Zheng, S., Fam, J., Yu, F., Fend, B., Lou, B., Zou, Q., ... Chen, Y. (2020). Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January–March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*, *369*, m1443.
- Zhong, M., Lin, B., Pathak, J. L., Gao, H., Young, A. J., Wang, X., ... Wang, L. (2020). ACE2 and Furin expressions in oral epithelial cells possibly facilitate COVID-19 infection via respiratory and fecal-oral routes. *Frontiers in Medicine*, *7*, 580.